

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
16. Juni 2005 (16.06.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/054174 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C07C 229/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2004/002691

(22) Internationales Anmeldedatum:  
6. Dezember 2004 (06.12.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 57 301.1 5. Dezember 2003 (05.12.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): **SCHEBO.BIOTECH AG** [DE/DE]; Netanyastrasse  
3-5, 35394 Giessen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SCHEEFERS, Hans**  
[DE/DE]; Krofendorfer Strasse 59, 35435 Wettenberg-Wiss-  
mar (DE).

(74) Anwälte: **JUNGBLUT, Bernhard** usw.; Albrecht, Lücke  
& Jungblut, Gelfertstrasse 56, 14195 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,  
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,  
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,  
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,  
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL,  
PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-  
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: COMPOUNDS FOR MODULATING THE GLYCOLYSIS ENZYME COMPLEX AND/OR THE TRANSAMINASE COMPLEX

(54) Bezeichnung: VERBINDUNGEN ZUR MODULATION DES GLYKOLYSE-ENZYM-UND/ODER TRANSAMI-  
NASE-KOMPLEXES

(57) Abstract: The invention relates to compounds for modulating the glycolysis enzyme complex and the transaminase complex, pharmaceutical compositions containing said compounds, and to the uses of said compounds for the production of pharmaceutical compositions for the treatment of different illnesses.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verbindungen zur Modulation des Glykolyse Enzym-Komplexes und des Transaminase-Komplexes, pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend solche Verbindungen sowie Verwendungen von solchen Verbindungen zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Behandlung verschiedener Krankheiten.



**WO 2005/054174 A2**

Verbindungen zur Modulation des Glykolyse-Enzym- und/oder Transaminase-Komplexes.

## 5 Gebiet der Erfindung.

Die Erfindung betrifft Verbindungen zur Modulation des Glykolyse-Enzym- und/oder Transaminase-Komplexes und folglich insbesondere Wachstumshemmung von Zellen und/oder  
10 Bakterien, pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend solche Verbindungen sowie Verwendungen von solchen Verbindungen zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Behandlung verschiedener Krankheiten.

15

## Hintergrund der Erfindung.

Krebs ist heutzutage eine der häufigsten Todesursachen und  
20 die Zahl der Krebsfälle in den industrialisierten Ländern nimmt ständig zu. Das beruht vor allem darauf, daß maligne Tumoren eine Erkrankung des höheren Lebensalters sind und dank der erfolgreichen Bekämpfung von Infektionskrankheiten jetzt mehr Menschen dieses Alter erreichen. Trotz  
25 aller Fortschritte auf diagnostischem und therapeutischem Gebiet liegen die Heilungsaussichten für die am häufigsten auftretenden inneren Krebsformen selten über 20%. Eine Krebsgeschwulst kann derzeit vernichtet oder in ihrem Wachstum gehemmt werden. Eine Rückbildung einer Tumorzelle  
30 in eine normale Zelle lässt sich noch nicht erreichen. Die wichtigsten therapeutischen Maßnahmen, die Operation und die Bestrahlung, entfernen Krebszellen aus dem Organismus. Auch die derzeit gebräuchlichen Chemotherapeutika des

Krebses, die Zytostatika, führen nur zu einer Zerstörung oder Schädigung von Tumorzellen. Die Wirkung ist in den meisten Fällen so wenig spezifisch, daß gleichzeitig schwere Schäden an gesunden Zellen auftreten.

5

Im allgemeinen weisen Tumorzellen einen von gesunden Zellen abweichenden Metabolismus, insbesondere Glycolyse, auf. So ist eine Änderung des in die Glycolyse involvierten Isoenzym Systems und eine Änderung in dem  
10 Transport von NADH für Tumorzellen typisch. U.a. ist die Aktivität der Enzyme der Glycolyse erhöht. Dies erlaubt auch hohe Umsätze unter den bei Tumorzellen typischen aeroben Bedingungen. Im Detail wird hierzu auf E. Eigenbrodt et al., Biochemical an Molecular Aspects of  
15 Selected Cancers, Vol. 2, S. 311 ff., 1994, verwiesen.

Auch verschiedene andere, folgend genannte Krankheiten gehen entweder mit einer (übermäßigen) Verstoffwechselung über den Glykolyse-Enzymkomplex einher und lassen sich  
20 durch dessen Reduktion bzw. Hemmung behandeln.

Stand der Technik.

25 Aus der Literaturstelle E. Eigenbrodt et al., Biochemical an Molecular Aspects of Selected Cancers, Vol. 2, S. 311 ff., 1994, ist es bekannt, zur Hemmung der Glycolyse Glucoseanaloge einzusetzen. Andere hieraus bekannte Ansätze sind der Einsatz von Inhibitoren glycolytischer  
30 Isoenzyme, beispielsweise durch geeignete Komplexbildung oder Inhibierung von Komplexbildungen. Im Ergebnis werden Tumorzellen gleichsam ausgehungert. Problematisch bei den vorstehenden Verbindungen ist, daß viele davon

geneotoxisch sind und/oder nicht hinreichend spezifisch für Tumorzellen.

#### 5 Technisches Problem der Erfindung.

Der vorliegenden Erfindung liegt das technische Problem zu Grunde, Wirkstoffe anzugeben, welche in der Lage sind, den Glykolyse-Enzym- und Transaminase-Komplex zu modulieren  
10 bzw. zu hemmen, insbesondere die Proliferation von Krebszellen und somit das Wachstum neoplastischer Tumore zu hemmen sowie überschießende Abwehrreaktionen des Körpers, wie z.B. septischer Schock, Autoimmunerkrankungen, Transplantatabstoßungen sowie akute und chronische  
15 Entzündungsreaktionen zu inhibieren, und zwar bei gleichzeitig lediglich geringfügiger bis keiner Zytotoxizität gegenüber Zellen mit intaktem Glykolyse-Enzym-Komplex oder anderen Komplex-Strukturen. Zusätzlich soll das Wachstum von unizellulären Organismen  
20 gehemmt werden.

#### Grundzüge der Erfindung.

25 Zur Lösung dieses technischen Problems lehrt die Erfindung Verbindungen gemäß Anspruch 1 sowie Verwendungen dieser Verbindungen.

Für AS in Frage kommen insbesondere Reste der proteino-  
30 genen Aminosäuren, und/oder der essentiellen Aminosäuren. Soweit eine erfindungsgemäße Verbindung optische Aktivität aufweist, sind die verschiedenen Varianten, wie L- und

D-Form mit umfasst. Entsprechendes gilt im Fall (mehrerer) chiraler Zentren.

Besonders geeignet sind erfindungsgemäße Verbindungen der  
5 Figuren. Erfindungsgemäße Substanzen können, pH-abhängig, in Lösung ionisiert vorliegen (z.B. als  $\text{-COO}^-$  im Basischen oder als  $\text{-NH}_3^+$  im Sauren). Es können auch Salze, wie Hydrochloride usw. gebildet sein.

10 Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, daß neben den klassischen Stoffwechselerkrankungen, wie Diabetes mellitus, Adipositas auch andere Erkrankungen, wie Krebs, Autoimmunerkrankungen und Rheuma durch Stoffwechselentgleisungen verursacht werden. Dies erklärt den starken  
15 Einfluss der Ernährung auf diese Erkrankungen. Ein direkter messbarer biochemischer Parameter für diese Stoffwechselentgleisungen ist der Anstieg der Pyruvatkinase Typ M2 (M2-PK), die im Blut von Patienten aller vorstehend und folgend genannter Erkrankungen ansteigt. In Abhängigkeit  
20 von der jeweiligen Erkrankung kommt die im Blut der Patienten nachweisbare M2-PK aus unterschiedlichen Zellen: bei Krebs aus Tumorzellen, bei Sepsis aus Immunzellen, bei Rheuma aus Immun- und/oder Sinovialzellen. In gesunden Zellen findet sich die tetramere Form der M2-PK in einem  
25 hoch geordneten cytosolischen Komplex, dem Glykolyse-Enzym-Komplex. Durch die Überaktivierung von Oncoproteinen kommt es zur Auswanderung der M2-PK aus dem Komplex und zu den typischen Veränderungen im Tumor-Stoffwechsel. Gleichzeitig verlässt die Phosphoglyceromutase (PGM) den  
30 Komplex und wandert in einen anderen Enzym-Komplex, in dem cytosolische Transaminasen assoziiert sind (siehe Beispiel 2). Dieser Komplex wird daher als Transaminase-Komplex bezeichnet. Das Substrat der PGM, Glycerat-3-P, ist die

Vorstufe für die Synthese der Aminosäuren Serin und Glycin. Beide Aminosäuren sind essentiell für die DNA- und Phospholipid-Synthese. Durch das Einwandern der PGM in den Transaminase-Komplex wird die Synthese von Serin aus Glutamat und damit die Glutaminolyse aktiviert. Die gleichen Veränderungen finden in Immunzellen statt, wenn das Immunsystem entgleist, wie beispielsweise bei Rheuma, Sepsis oder Polytrauma. Die Integration des Stoffwechsels von verschiedenen Zellen in multizellulären Organismen erfolgt durch Organ-spezifische Assoziation der Enzyme im Cytosol: im Muskel z.B. durch Assoziation mit Kontraktionsproteinen. Aus diesem Grund sind die verschiedenen Organe mit jeweils spezifischen Isoenzymen ausgestattet. Die Auflösung dieser Ordnung führt zwangsläufig zu Erkrankungen. Unizelluläre Organismen, wie Bakterien oder Hefen, die auf ausreichendes Nahrungsangebot mit ungezügelter Proliferation reagieren, besitzen keine komplexe Organisation des Cytosols. Folglich hemmen Substanzen, die den entgleisten Stoffwechsel von multizellulären Organismen hemmen, auch die Proliferation von solchen unizellulären Organismen.

Die Erfindung lehrt weiterhin die Verwendung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung einer oder mehrerer Erkrankungen aus der Gruppe bestehend aus "Krebs, chronische Entzündungen, Asthma, Arthritis, Osteoarthritis, chronische Polyarthrit, rheumatische Arthritis, Inflammatory bowel disease, degenerative Gelenkerkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises mit Knorpelabbau, Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Typ I Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis, Autoimmunthrombozytopenie, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Morbus Crohn, Uveitis, Psoriasis,

Kollagenosen, Goodpasture-Syndrom, Erkrankungen mit gestörter Leukozyten-Adhäsion, Cachexie, Erkrankungen durch erhöhte TNFalpha Konzentration, Diabetes, Adipositas, bakterielle Infektionen, insbesondere mit resistenten  
5 Bakterien". Der Begriff der Behandlung umfaßt auch die Prophylaxe.

Die Erfindung lehrt des weiteren eine pharmazeutische Zusammensetzung, wobei eine erfindungsgemäße Verbindung  
10 mit einem oder mehreren physiologisch verträglichen Hilfstoffen und/oder Trägerstoffen gemischt und galenisch zur lokalen oder systemischen Gabe, insbesondere oral, parenteral, zur Infusion bzw. Infundierung in ein Zielorgan, zur Injektion (z.B. i.v., i.m., intrakapsulär oder  
15 intralumbal), zur Applikation in Zahntaschen (Raum zwischen Zahnwurzel und Zahnfleisch) hergerichtet ist.

Die Erfindung lehrt schließlich die Verwendung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur in vitro Hemmung des  
20 Glykolyse-Enzymkomplexes, insbesondere von Pyruvatkinase, Asparaginase, Serindehydratasen, Transaminasen, Desaminasen, und/oder Glutaminasen. Blockiert werden insbesondere die Transaminierung, die oxidative Desaminierung, die hydrolytische Desaminierung, die eliminierende De-  
25 saminierung und die reduktive Desaminierung.

Es versteht sich, daß ggf. für erfindungsgemäße Verbindungen verschiedenen Stereoisomere existieren können, welche alle Gegenstand der Erfindung sind. Der  
30 Begriff Alkyl umfaßt lineare und verzweigte Alkygruppen sowie Cycloalkyl, ggf. auch Cycloalkylgruppen mit linearen oder verzweigten Alkylsubstituenten. Der

Begriff Aryl umfaßt auch Aralkylgruppen, wobei Alkyl-substituenten Alkyl oder Cycloalkyl sein können.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß erfindungs-  
5 gemäßige Verbindungen in der Lage sind, die vorstehend  
genannten Mitglieder der Glykolyse-Enzymkomplexes kompetitiv zu hemmen. So kann die Proliferation von  
Krebszellen in therapeutisch relevanten  
Konzentrationen gehemmt werden. Dabei ist in dem in  
10 Frage kommenden Dosisbereich keine zytotoxische  
Wirkung zu erwarten. Aufgrund ihrer pharmakologischen  
Eigenschaften eignen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen auch hervorragend zur Behandlung und Prophylaxe der weiteren, vorstehend aufgezählten  
15 Erkrankungen. Im Zusammenhang mit den Indikationen zur  
Entzündungshemmung bzw. antirheumatische Wirkung ist  
von besonderer Relevanz, daß es sich bei den erfindungsgemäßen Substanzen um nicht-steroidale Substanzen handelt.

20

Die Hemmung des Glykolyse-Enzym- und des Transaminase-Komplexes umfaßt insbesondere die Hemmung der  
Verstoffwechselung und des Energiegewinns aus Serin,  
Glutamin, Glutamat, Ornithin, Prolin, Alanin und Ar-  
25 ginin oder aus anderen Aminosäuren dieser oder anderer  
Familien, aber auch die Synthese solcher zur Energieerzeugung genutzten Aminosäuren; wichtigen Energiequellen beispielsweise in Tumorzellen, aber auch in  
Bakterien und Hefen. Die Zellen bzw. Bakterien oder  
30 Hefen werden gleichsam ausgehungert. Im Einzelnen  
blockieren erfindungsgemäße Substanzen beispielsweise die folgenden Reaktionen: i) Threonin zu Glycin, ii)  
Threonin zu  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -ketobutyrat, iii)  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -



ketobutytrat zu Glycin, iv) Serin-Pyridoxalphosphat (PLP) Schiff'sche Base zu Aminoacrylat, insbesondere die Folsäure-abhängige Serinhydroxymethyltransferase, v) Aminoacrylat zu Pyruvat (durch Verschiebung des Gleichgewichts der natürlichen Hydrolyse der PLP Schiff'schen Base hin zur Schiff'schen Base), vi) Transaminierung mittels PLP zur Synthese einer Aminosäure aus einer Oxosäure, insbesondere der verzweigtkettigen Transaminase, die  $\alpha$ -Ketoglutarat, Oxalacetat, 3-Hydroxypyruvat und Glyoxalat Transaminase, die Glutamat Dehydrogenase. Insbesondere wird mit erfindungsgemäßen Substanzen die Bildung von Pyruvat aus Aminosäuren gehemmt. Wichtig ist die Freisetzung von  $\text{NH}_2\text{-OH}$  oder  $\text{CH}_3\text{-OH}$  (-H an C oder N ggf. ersetzt durch andere Reste, beispielsweise Alkyl) durch Glutaminase, Arginase, Asparaginase oder Serinhydroxymethyltransferase. Dies führt zu einer erhöhten Spezifität, da ein Charakteristikum von Tumorzellen eine hohe Glutaminase und Serinhydroxymethyltransferase Aktivität ist.  $\text{NH}_2\text{-OH}$  (Hydroxylamin, HA) beispielsweise kann von den hohen Pyruvatkinase Aktivitäten anstelle des -OH des Phosphates (z.B. des ADP) phosphoryliert werden. Dies führt zur Entkoppelung der Pyruvatkinase-Reaktion in Tumorzellen. Daher umfasst die Erfindung in aller Allgemeinheit auch alle natürlichen Metaboliten der erfindungsgemäßen Substanzen, insbesondere des Aminoxyacetat, i.e. Bruchstücke dieser Substanzen.

Im Transaminase-Komplex sind neben der PGM und NDPK die cytosolischen Isoformen der Glutamat Oxalacetat Transaminase (GOT), Glutamat Pyruvat Transaminase (GPT), Glutamat Dehydrogenase (GIDH) und Malat

Dehydrogenase (MDH) assoziiert. Die GOT und MDH sind Bestandteile des Malat-Aspartat-Shuttle, über den der im Cytosol produzierte Wasserstoff in die Mitochondrien transportiert wird. Dabei wird NAD<sup>+</sup> für die cy-  
5 tosolische Glycerinaldehyd 3-Phosphat Dehydrogenase Reaktion recycled. Der Malat-Aspartat-Shuttle ist Bestandteil der Glutaminolyse. Für einen aktiven Malat-Aspartat-Shuttle ist neben der GOT das Vorhandensein der p36 gebundenen Form der MDH wichtig,  
10 wie in Beispiel 3 dargestellt.

Im Rahmen der Erfindung sind diverse weitere Ausführungsformen möglich. So kann eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung mehrere verschiedene,  
15 unter die vorstehenden Definitionen fallende Verbindungen enthalten. Weiterhin kann eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung zusätzlich einen von der Verbindung der Formel I verschiedenen Wirkstoff enthalten. Dann handelt es sich um ein Kom-  
20 binationspräparat. Dabei können die verschiedenen eingesetzten Wirkstoffe in einer einzigen Darreichungsform präpariert sein, i.e. die Wirkstoffe sind in der Darreichungsform gemischt. Es ist aber auch möglich, die verschiedenen Wirkstoffe in räumlich  
25 getrennten Darreichungsformen gleicher oder verschiedener Art herzurichten.

Als Gegenionen für ionische Verbindungen nach Formel I kommen Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, Cyclohexylammonium, oder basische  
30 Aminosäuren (z.B. Lysin, Arginin, Ornithin, Glutamin) in Frage.

Die mit erfindungsgemäßen Verbindungen hergestellten Arzneimittel können oral, intramuskulär, periartikulär, intraartikulär, intravenös, intraperitoneal, subkutan oder rektal verabreicht werden.

5

Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln, die dadurch gekennzeichnet sind, dass man mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen  
10 Träger und gegebenenfalls weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete Darreichungsform bringt.

Geeignete feste oder flüssige galenische  
15 Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Dragees, Tabletten, (Mikro) Kapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder injizierbare Lösungen sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche  
20 Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden.

Als Hilfsstoffe seien Magnesiumcarbonat, Titandioxid,  
25 Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Cellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuß- oder Sesamöl, Polyethylenglykole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole,  
30 z.B. Glycerin, genannt.

Vorzugsweise werden die Arzneimittel in Dosierungseinheiten hergestellt und verabreicht, wobei jede Einheit

als aktiven Bestandteil eine definierte Dosis der erfindungsgemäßen Verbindung gemäß Formel I enthält. Bei festen Dosierungseinheiten wie Tabletten, Kapseln, Dragees oder Suppositorien kann diese Dosis 1 bis 1000 mg, 5 bevorzugt 50 bis 300 mg, und bei Injektionslösungen in Ampullenform 0,3 bis 300 mg, vorzugsweise 10 bis 100 mg, betragen.

Für die Behandlung eines Erwachsenen, 50 bis 100 kg 10 schweren, beispielsweise 70 kg schweren, Patienten sind beispielsweise Tagesdosen von 20 bis 1000 mg Wirkstoff, vorzugsweise 100 bis 500 mg, indiziert. Unter Umständen können jedoch auch höhere oder niedrigere Tagesdosen angebracht sein. Die Verabreichung der Tagesdosis kann 15 sowohl durch Einmalgabe in Form einer einzelnen Dosierungseinheit oder aber mehrerer kleinerer Dosierungseinheiten als auch durch Mehrfachgabe unterteilter Dosen in bestimmten Intervallen erfolgen.

20 Erfindungsgemäße Verbindungen sind aufgrund der einfachen chemischen Struktur von Durchschnittsschemikern unschwer synthetisierbar.

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist 25 beispielsweise zur oralen Gabe hergerichtet, beispielsweise mit folgenden Hilfs- und Trägerstoffen: kolloidales  $\text{SiO}_2$ , Crospovidon, Hydroxypropylmethylcellulose, Laktosemonohydrat, Magnesiumstearat, Polyethylenglykol, Povidon, Stärke, Talkum,  $\text{TiO}_2$ , und/oder gelbes Eisenoxid. 30 Die Dosierung beträgt täglich 1 bis 50 mg, vorzugsweise 10 bis 30 mg. Es kann sich empfehlen, anfangs einer Therapie eine Startdosis von 20 bis 500 mg, insbesondere 50 bis 150

mg, für die ersten 1 bis 10 Tage, insbesondere ersten 1 bis 3 Tage, zu verabreichen.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung wird die eingangs genannte Substanz mit einem oder mehreren Zuckerphosphaten, beispielsweise Fructose-1,6-bisphosphat, Glycerat-2,3-bisphosphat, Glycerat-3-Phosphat, Ribose-1,5-bisphosphat, Ribulose-1,5-bisphosphat, kombiniert, wobei die Stoffkombination in einer Darreichungsform, beispielsweise Tablette, gemischt sein kann. Es ist aber auch möglich, die Komponenten separat in gleichen oder verschiedenen Darreichungsformen zur Verfügung zu stellen. Das Zuckerphosphat kann in einer Dosierung von 20 bis 5000 mg pro Tag, beispielsweise 100 bis 500 mg, verabreicht werden.

Diese Varianten der Erfindung führt überraschenderweise zur Hemmung des Wachstums von Tumorzellen und Tumorgewebe, weil diese Substanzen bzw. der Metabolit an die Pyruvatkinase binden und den für Tumorzellen entgleisten Energiestoffwechsel hemmen oder rückgängig machen können. Aus diesen Zusammenhängen ergibt sich als besonderer Vorteil, daß diese Substanzen spezifisch in den Stoffwechsel von Tumorzellen und nicht oder weniger in jenen von Normalzellen eingreifen und somit allenfalls geringe Nebenwirkungen auftreten.

Die Wirksamkeit dieser Substanzen ist deshalb überraschend, weil die bekannte Wirkung als Pyrimidinsynthesehemmer einen völlig anderen Wirkmechanismus betrifft und die phänomenologische Beobachtung einer antiproliferativen Wirkung im Wesentlichen auf Immunzellen und Zellen, die im

Zusammenhang mit inflammatorischen Erkrankungen stehen, gerichtet ist.

Von besonderer Bedeutung ist auch eine Kombination eines  
5 oder mehrerer der auf der vorangehenden Seite genannten  
Wirkstoffe mit einem oder mehreren der weiter vorange-  
henden Wirkstoffe oder Aminooxyacetat (AOA,  
 $\text{NH}_2\text{-O-CH}_2\text{-COOH}$ , Salze oder Ester, beispielsweise  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$   
Alkyl- oder Hydroxyalkylester, hiervon). Z.B. AOA ist ins-  
10 besondere auf kleine Tumore ( $< 0,1$  bis  $1\text{ cm}^3$ ) wirksam bzw.  
verhindert deren Bildung, insbesondere die Metastasen-  
bildung, während Verbindungen der Formeln 10 oder 11, ggf.  
in Kombination mit Zuckerphosphat gegen die großen Tumore  
wirksam ist. Grund hierfür sind die unterschiedlichen  
15 Stoffwechsel in kleinen bzw. großen Tumoren. Die vorste-  
henden Ausführungen zu Kombinationen gelten analog.

Erfindungsgemäße Substanzen sind des weiteren verwendbar  
zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur  
20 Behandlung der Herzinsuffizienz bzw. der Chronic Cardiac  
Failure (CCF). Hierunter fallen die im Rahmen der New York  
Heart Association (NYHA) Classification definierten Vari-  
anten bzw. Grade von NYHA I bis NYHA IV. Bei allen diesen  
Erkrankungen handelt es sich um ein akutes und/oder chro-  
25 nisches Unvermögen des Herzmuskels, bei Belastung oder  
schon in Ruhe den für den Stoffwechsel des Organismus er-  
forderlichen Blutausswurf bzw. die erforderliche Förder-  
leistung aufzubringen. Ursachen hierfür liegen in der  
unzureichenden Glykolyse durch Glucosemangel im Herzmuskel  
30 und/oder dessen unzureichende Sauerstoffversorgung sowie  
in komplexen koronaren Entzündungsprozessen (Aktivierung  
von Zellen des Immunsystems sowie Komplement). Dieser As-  
pekt der Erfindung beruht dabei auf der Erkenntnis, daß

mit den erfindungsgemäßen Substanzen alternative energieerzeugende biochemische Prozesse moduliert werden und somit es auch möglich ist, gleichsam Ersatzpfade für die vorstehend genannten mangelhaft funktionierenden Prozesse zu schaffen, beispielsweise durch Aktivierung der Serinolyse oder Glutaminolyse oder mit erfindungsgemäßen Substanzen das existierende dynamische Gleichgewicht zwischen Glykolyse auf der einen Seite und der Glutaminolyse auf der anderen Seite zu Gunsten der Glykolyse zu verschieben unter gleichzeitiger Gabe von Sauerstoff (Erhöhung des Sauerstoff-Partialdruckes im Blut, beispielsweise durch Beatmung). In diesem Zusammenhang kann die Gabe von erfindungsgemäße entzündungshemmenden Substanzen die drohende lebensgefährliche Acidose (durch Lactatbildung) vermieden werden. Gegenüber den bekannten Maßnahmen, wie Gabe von ACE-Hemmern, Diuretika, Digitalis, positiv inotropen Substanzen, oder Isosorbiddinitrat, wird mit erfindungsgemäßen Substanzen direkt in den Energiestoffwechsel eingegriffen und dieser verbessert. Nebenwirkungen sind folglich vergleichsweise gering.

In diesem Zusammenhang wurde im Rahmen der Erfindung auch gefunden, daß zumindest in den Fällen der NYHA Grade II bis IV die Konzentration von Tumor M2-PK (= M2-PK dimer in Gegensatz zu Normal-M2-PK, welche tetramer vorliegt) in Zellen und/oder dem Blut zunimmt, welche routinemäßig leicht, im Gegensatz zu bisher gängigen Methoden, bestimmt werden kann. Daher lehrt die Erfindung weiterhin die Verwendung eines Tumor M2-PK detektierenden Testsystems zur Herstellung eines Diagnostikums zur in vitro Diagnose einer Herzinsuffizienz, insbesondere auch des Grades bzw. der damit verbundenen Entzündungsprozesse. Werden bei einem Patienten im Blutplasma gegenüber Standardwerten

(definierte maximale Grenzwerte; Normalkollektiv) erhöhte Tumor M2-PK Werte (Kollektiv der Erkrankten) gefunden, so ist dies indikativ für das Vorliegen einer Herzinsuffizienz und/oder für damit korrelierte Entzündungsprozesse, zumindest aber für das Risiko, an Herzinsuffizienz zu erkranken. Eine solche Blutplasmaanalyse ist einfach und kurzfristig durchführbar. Demgegenüber sind bisherige Standardmethoden (Goldstandard, Blutgasanalyse) routineuntauglich und teuer. Es können im Rahmen dieses Aspektes der Erfindung beliebige bekannte Testsysteme eingesetzt werden, welche Tumor M2-PK detektieren, z.B. immunologische Testsysteme mit Antikörpern. Insbesondere sind auch per se bekannte Testsysteme einsetzbar, welche Tumor M2-PK als Tumorstoffwechselmarker detektieren, beispielsweise hierfür spezifische monoklonale Antikörper.

Diverse erfindungsgemäß einsetzbare Substanzen sind in den weiteren Figuren dargestellt. Dabei sind insbesondere die wesentlichen Variationsmöglichkeiten beispielhaft dargestellt, wobei die ohne weiteres daraus ersichtlichen Permutationen der Einfachheit halber nicht dargestellt sind. Die Erfindung umfasst schließlich auch alle natürlichen Metaboliten der beschriebenen Substanzen. Schließlich gehören zu den erfindungsgemäß einsetzbaren Substanzen auch Glycerat-2,3-bisphosphat und Fructose-1,6-bisphosphat.

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von lediglich Ausführungsformen darstellenden Beispielen näher erläutert.



Beispiel 1: Quantifizierung der Wirksamkeit einer  
erfindungsgemäßen Verbindung

Einsetzbare Novikoff-Hepatom-Zellen sind von der Tumorbank  
5 des Deutschen Krebsforschungszentrums, Heidelberg, (Cancer  
Research 1951 , 17, 1010) erhältlich. Es werden je 100.000  
Zellen pro 25cm<sup>2</sup>-Kultivierungsflasche ausgesät. Eine  
erfindungsgemäße Substanz wird, gelöst in einem für den  
Einsatz in Zellkulturen geeigneten Lösungsmittel wie z.B.  
10 Wasser, verd. Ethanol, Dimethylsulfoxid o.ä., in  
steigender Konzentration dem Kulturmedium zugesetzt, z.B.  
im Konzentrationsbereich von 80µM - 5000µM oder von 100µM  
- 300 µM). Nach vier Kultivierungstagen wird die Zellzahl  
pro Flasche ausgezählt. Im Vergleich zu der Kontrollprobe  
15 (ohne Zugabe einer erfindungsgemäßen Verbindung oder mit  
ersatzweiser Zugabe einer Referenzverbindung) erkennt man  
das Maß und die Dosisabhängigkeit einer  
Proliferationshemmung der eingesetzten Verbindung.

20 Beispiel 2: Auswanderung der PGM

In der Figur 1a ist eine isoelektrische Fokussierung eines  
Tumorzellextraktes (MCF-7 Zellen) gezeigt. Man erkennt,  
daß PGM den Glykolyse-Enzym-Komplex verläßt und in einen  
25 mit den cytosolischen Transaminasen assoziierten Komplex,  
dem Transaminase-Komplex, wandert. Der Transaminase-  
Komplex ist wie folgt zusammengesetzt: cytosolische  
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), c-Malat-Dehydro-  
genase (MDH), Phosphoglyceromutase (PGM). Nicht gezeigt  
30 sind: c-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), c-Glutamat-  
Hydroxypyruvat-Transaminase, c-Alanin-Hydroxypyruvat-  
Transaminase, c-Serin-Hydroxymethyl-Transferase und  
c-Glutamat-Dehydrogenase (GIDH). Die PGM und die

Nukleotid-Diphosphatkinase (NDPK) können sowohl im Transaminase- als auch im Glycolyse-Enzym-Komplex assoziiert sein.

5 Beispiel 3:

In den Figuren 2 ff. sind lediglich beispielhaft eine Reihe von Variationsmöglichkeiten erfindungsgemäßer Strukturen angegeben. Man erkennt hieraus auch diverse  
10 Permutationsmöglichkeiten. Die jeweiligen Variationsmöglichkeiten können auch bei den anderen Variationsmöglichkeiten eingerichtet sein. Grundsätzlich können die Reste des Anspruchs 1 beliebig und unabhängig voneinander, wie dort angegeben, variiert werden. Einfache  
15 Varianten, wie C1-Alkyl, C2-Alkyl, C3-Alkyl, etc. sind nicht dargestellt und insofern wird ergänzend auf die Patentansprüche verwiesen. Schließlich gehören zu erfindungsgemäß verwendbaren Substanzen Glycerat-2,3-bisphosphat und Fructose-1,6-bisphosphat.  
20 Erfindungsgemäße Substanzen sind des weiteren  $\text{CH}_3-(\text{CO})-\text{NHAl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Cx}-\text{Alkyl}$  ( $x=1,2,3,4,5$ ), wobei S durch NH ersetzt sein kann.

Beispiel 4: Synthesewege zur Substitution der Hydroxy-  
25 gruppe einer Hydroxyaminosäure durch die Oxyaminogruppe.

5-Hydroxy-2-Aminopentansäure wird zunächst mit t-Butyloxycarbonylazid (t-butyl)-O-(CO)-N<sub>3</sub>) umgesetzt, welches  
30 eine Schutzgruppe für die Aminogruppe bildet. Das Produkt wird dann mit Benzylbromid umgesetzt, welches eine Schutzgruppe für die Carboxylgruppe bildet. Das so erhaltene Produkt wird dann mit Benzohydroxamsäure (Benz-(CO)-

NH-OH) umgesetzt, wobei unter Wasserabspaltung die gewünschte C-O-N Struktur gebildet wird. Im Säuren wird dieses Zwischenprodukt zu 5-Oxyamino-2-Aminopentansäure zersetzt, wobei auch die Schutzgruppen entfernt werden.

5

In entsprechender Weise können verschiedene Derivate mit unterschiedlich langen Alkylketten hergestellt werden. Einsatz von beispielsweise 3-Hydroxy-2-Aminopropansäure ergibt als Produkt die Verbindung der Formel XVI in Figur

10 3, 3-Oxyamino-2-Aminopropansäure, welches das Oxyamin Derivat des Serin ist. 3-Oxyamino-2-Aminopropansäure lässt sich alternativ durch saure Aufspaltung (2HCl) von Cycloserin herstellen.

15 4-Oxyamino-2-Aminobutansäure ist durch saure Aufspaltung (HCl) von Cyclohomoserin herstellbar.

Beispiel 5: Syntheseweg zur Herstellung von Aminosäurederivaten, bei welchen die Aminogruppe durch  
20 die Oxyaminogruppe substituiert ist.

Als Edukte kommen beliebige alpha-Hydroxycarbonsäuren in Frage. An dem alpha C-Atom können beliebige Reste, ggf. mit Schutzgruppen, eingerichtet sein. Als Reste kommen  
25 beispielsweise insbesondere alle Reste von Aminosäuren in Frage.

Das Edukt wird zunächst mit Benzylbromid umgesetzt, welches eine Schutzgruppe für die Carboxylgruppe bildet.  
30 Das so erhaltene Produkt wird dann mit Benzohydroxamsäure (Benz-(CO)-NH-OH) umgesetzt, wobei unter Wasserabspaltung die gewünschte C-O-N Struktur gebildet wird. Im Säuren

wird dieses Zwischenprodukt zur alpha-Oxyaminocarbonsäure zersetzt, wobei auch die Schutzgruppen entfernt werden.

Alternativ kann wie folgt vorgegangen werden. Das Edukt  
5 wird zunächst mit Benzylbromid umgesetzt, welches eine Schutzgruppe für die Carboxylgruppe bildet. Das so erhaltene Produkt wird dann mit 3,3'-di-t-butyloxaziridin umgesetzt, wobei die gewünschte C-O-N Struktur unmittelbar gebildet wird. Im Säuren wird dieses Zwischenprodukt zur  
10 alpha-Oxyaminocarbonsäure zersetzt, wobei die Schutzgruppen entfernt werden.

Beispiel 6: Synthese von Oxyaminocarbonsäuren.

15 Als Edukt wird eine beliebige Hydroxycarbonsäure, beispielsweise mit 2 bis 7 C-Atomen, zunächst mit Benzylbromid umgesetzt, welches eine Schutzgruppe für die Carboxylgruppe bildet. Das so erhaltene Produkt wird dann mit Benzohydroxamsäure (Benz-(CO)-NH-OH) umgesetzt, wobei un-  
20 ter Wasserabspaltung die gewünschte C-O-N Struktur gebildet wird. Im Säuren wird dieses Zwischenprodukt zur alpha-Oxyaminocarbonsäure zersetzt, wobei auch die Schutzgruppen entfernt werden.

25 Beispiel 7: Synthese eines Oxyaminobenzylderivates.

Eine para Flourbenzylverbindung wird mit einer Hydroxyaminverbindung umgesetzt. Das Produkt hieraus wird mit  $N_2H_4$  zum gewünschten Oxyaminobenzylderivat (bzw. O-  
30 Phenylhydroxylaminderivat) umgesetzt. Der para Substituent des Edukts bleibt erhalten. Ggf. sind für diesen Substituenten zuvor Schutzgruppen einzurichten.

## Beispiel 8: bevorzugte Varianten der Erfindung

5

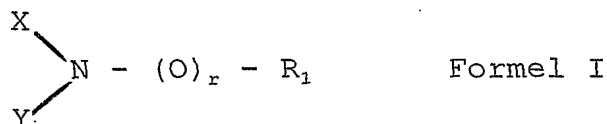
Unter die Formel des Anspruches 1 fallen insbesondere  
Derivate von natürlichen Aminosäuren, wobei die alpha Ami-  
nogruppe durch eine Oxyaminogruppe ( $-O-NH_2$ ) ersetzt ist  
( $X=Y=H$ ;  $r=1$ ;  $R_1=-(CR_{20}R_{20})_{n1}-(CO)_{r1}-(CR_{20}R_{20})_{n2}-(O)_{r2}-R_{20}$  mit  
10  $n1=1$ ,  $r1=n2=r2=0$ ; ein  $R_{20}=-Am$  und das andere  $R_{20}=-COOH$ ,  
wobei Am der Rest einer Aminosäure, welcher am alpha-C  
einer Aminosäure gebunden ist). Es handelt sich um alpha-  
Oxyaminocarbonsäuren. Als zu Grunde liegende Aminosäuren  
kommen insbesondere Alanin, Serin, Cystein, Glutaminsäure  
15 und Asparaginsäure in Frage. Weist eine solche Substanz in  
Am eine  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-SH$ , oder  $-COOH$  Funktionalität auf, so  
können diese zusätzlich jeweils unabhängig voneinander  
durch  $-ONH_2$ , oder  $-CN$  Funktionalität ersetzt sein. Bevor-  
zugt ist für die Tumorbehandlung ein Kombinationspräparat  
20 aus den vorstehenden Oxyaminoderivaten der Aminosäuren  
Alanin, Serin und/oder Glutaminsäure, wobei in beliebiger  
Kombination 2 dieser Derivate oder auch alle 3 vorgesehen  
sein können.

25 Unabhängig hiervon können erfindungsgemäße Substanzen ne-  
ben den in Anspruch 2 genannten Indikationen auch für die  
Behandlung von Tuberkolose sowie der Schlafkrankheit  
eingesetzt werden.

## Patentansprüche:

- 1) Verbindung gemäß der Formel I oder physiologisch verträgliches Salz hiervon

5



10 wobei X und Y gleich oder verschieden und -Hal, -H, -O-R<sub>10</sub>, -NH<sub>2</sub>, -(CR<sub>20</sub>R<sub>20</sub>)<sub>n</sub>-O-NH<sub>2</sub>, C<sub>n</sub>-Alkyl (gesättigt, einfach oder mehrfach ungesättigt), C<sub>n</sub>-Aryl, -NO<sub>2</sub> sein können,

wobei R<sub>10</sub> -H, C<sub>n</sub>-Alkyl (gesättigt, einfach oder mehrfach ungesättigt), C<sub>n</sub>-Aryl sein kann,

15 wobei R<sub>1</sub> -H, C<sub>n</sub>-Alkyl (gesättigt, einfach oder mehrfach ungesättigt), C<sub>n</sub>-Aryl, -CH(ONXY)<sub>2</sub>, -C(ONXY)<sub>3</sub>, -(CR<sub>20</sub>R<sub>20</sub>)<sub>n</sub>-(CO)<sub>r</sub>-(CR<sub>20</sub>R<sub>20</sub>)<sub>n</sub>-(O)<sub>r</sub>-R<sub>20</sub>, -(CR<sub>20</sub>R<sub>20</sub>)<sub>n</sub>-CR<sub>110</sub>R<sub>111</sub>, -(CR<sub>20</sub>R<sub>20</sub>)<sub>n</sub>-NXY, -SO<sub>2</sub>-R<sub>20</sub>, -O-R<sub>20</sub>, -(CR<sub>20</sub>R<sub>20</sub>)<sub>n</sub>-(O)<sub>r</sub>-(CO)<sub>r</sub>-R<sub>110</sub> sein kann,

20 wobei R<sub>110</sub> =O, -Hal, -COOH, -CN, -SCN, -CNS, -CNO, -N=N-H, -O-CN, -(CO)-CN, -N=N sein kann,

wobei R<sub>111</sub> gleich R<sub>10</sub>, -O-R<sub>10</sub> sein kann,

wobei R<sub>20</sub> jeweils unabhängig -H, -OH, -Hal, C<sub>n</sub>-Alkyl (gesättigt, einfach oder mehrfach ungesättigt),

25 C<sub>n</sub>-Aryl, -AS, -NXY, -Z, -C(NH<sub>2</sub>)-COOH, -(CO)-CN, -COOH, R<sub>110</sub>, Benzyl (unsubstituiert oder -Hal und/oder -OH und/oder -ONXY und/oder C<sub>n</sub>-Alkoxy substituiert), -PO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, -P<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>3-</sup> sein kann,

30 wobei -O- jeweils unabhängig ersetzt sein kann durch -S- oder -Se-,

wobei n jeweils unabhängig jede ganze Zahl von 0 bis 18 sein kann,

wobei r jeweils unabhängig 0 oder 1 ist,

wobei AS jeweils unabhängig einen Aminosäurerest dar-  
stellt, welcher durch Entfernung der Aminogruppe einer  
Aminosäure erhalten ist, oder den Rest einer Ami-  
nosäure, welcher am  $\alpha$ -C einer Aminosäure gebunden ist,  
5 oder  $\text{COOH-CH-NH}_2$ ,

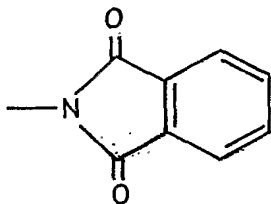
wobei -Hal -F, -Cl, -Br, oder -J ist,

wobei -Z ein Rest gemäß einer der folgenden Formeln II  
bis V ist,

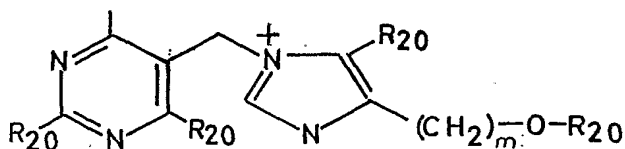
wobei -COOH jeweils unabhängig ersetzt sein kann durch  
10 -COOR<sub>10</sub>, -CHO, -CN, -(CO)-NXY, -C(NXY)<sub>2</sub>, -CH-O-NXY,  
-C(OH)-O-NXY, -(CO)-O-NXY, -(CO)-CN,

wobei freie Valenzen durch -H abgebunden sind,

wobei XYN- oder XYN-O- in Formel I ersetzt sein  
kann durch NC-, NCS-, NCO-, SNC-, ONC-, HN=N-,  
15 N=N-.



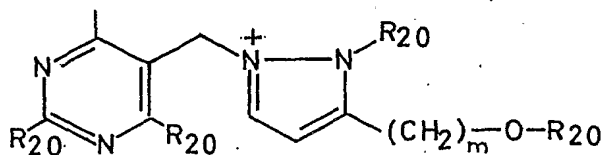
Formel II



Formel III

(m = 1, 2)

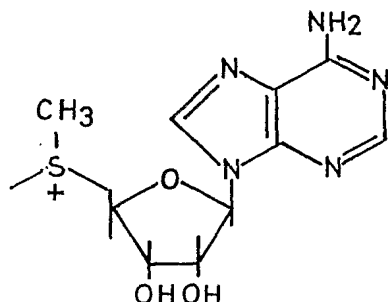
(XYN- = -OH oder -H)



Formel IV

(m = 1, 2)

(XYN- = -OH oder -H)



Formel V

(S<sup>+</sup> = N)

- 2) Verwendung einer Verbindung nach Anspruch 1 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung einer oder mehrerer Erkrankungen aus der Gruppe bestehend aus "Krebs, Rheuma, (chronische) Entzündungen, Asthma, Arthritis, Osteoarthritis, chronische Polyarthritis, rheumatische Arthritis, Inflammatory bowel disease, degenerative Gelenkerkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises mit Knorpelabbau, Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Typ I Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis, Autoimmunthrombozytopenie, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Morbus Crohn, Uveitis, Psoriasis, Kollagenosen, Goodpasture-Syndrom, Erkrankungen mit gestörter Leukozyten-Adhäsion, Cachexie, Erkrankungen durch erhöhte TNFalpha Konzentration, Diabetes, Adipositas, bakterielle Infektionen, insbesondere mit resistenten Bakterien (antibiotisch), Herzinsuffizienz, Chronic Cardiac Failure (CCF), Acidose".
- 3) Pharmazeutische Zusammensetzung, wobei eine Verbindung nach Anspruch 1 mit einem oder mehreren physiologisch verträglichen Hilfsstoffen und/oder Trägerstoffen gemischt und galenisch zur lokalen, insbesondere oralen, oder systemischen, insbesondere i.v., Gabe hergerichtet ist.
- 4) Verwendung einer Verbindung nach Anspruch 1 zur in vitro und/oder in vivo Hemmung der Glykolyse und/oder der



Glutaminolyse, insbesondere von Pyruvatkinase, Aspar-  
aginase, Serindehydratasen, Transaminasen, Glutamat Ox-  
alacetat Transaminase, Glutamat Pyruvat Transaminase,  
Glutamat Dehydrogenase, Malat Dehydrogenase, De-  
5 saminasen, und/oder Glutaminasen, insbesondere in Pro-  
und/oder Eukaryonten.

10

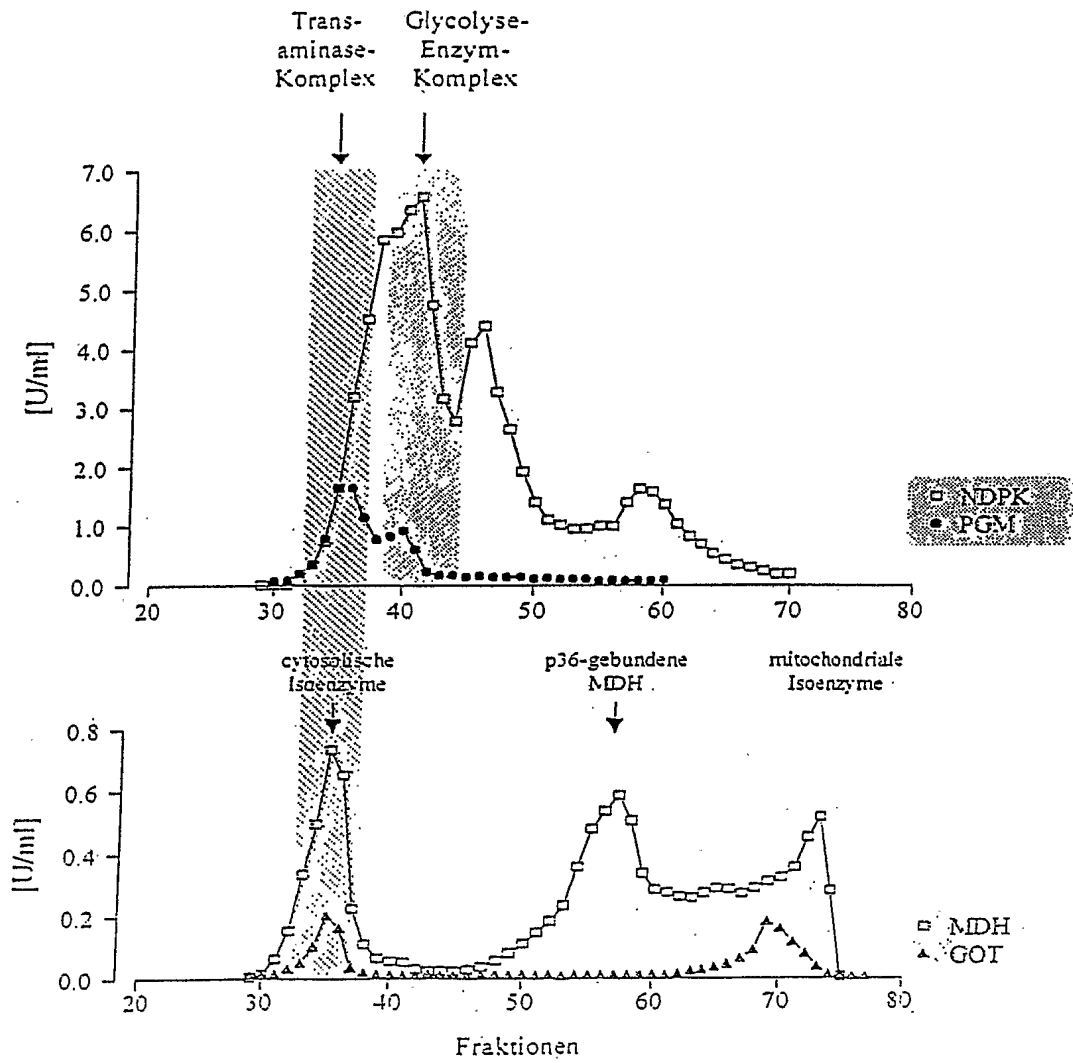
15

20

25

30

FIGUR 1



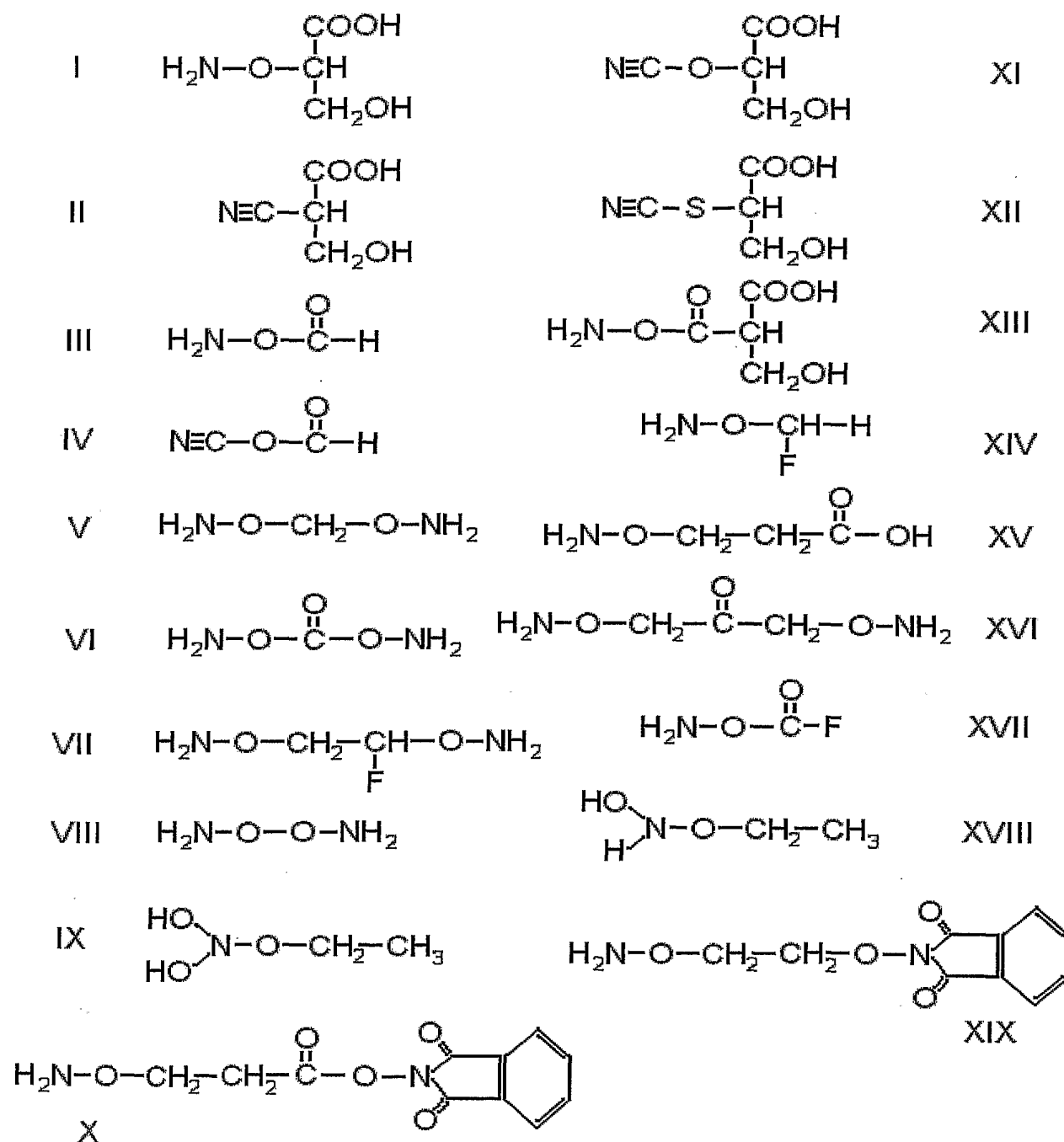


Fig. 2

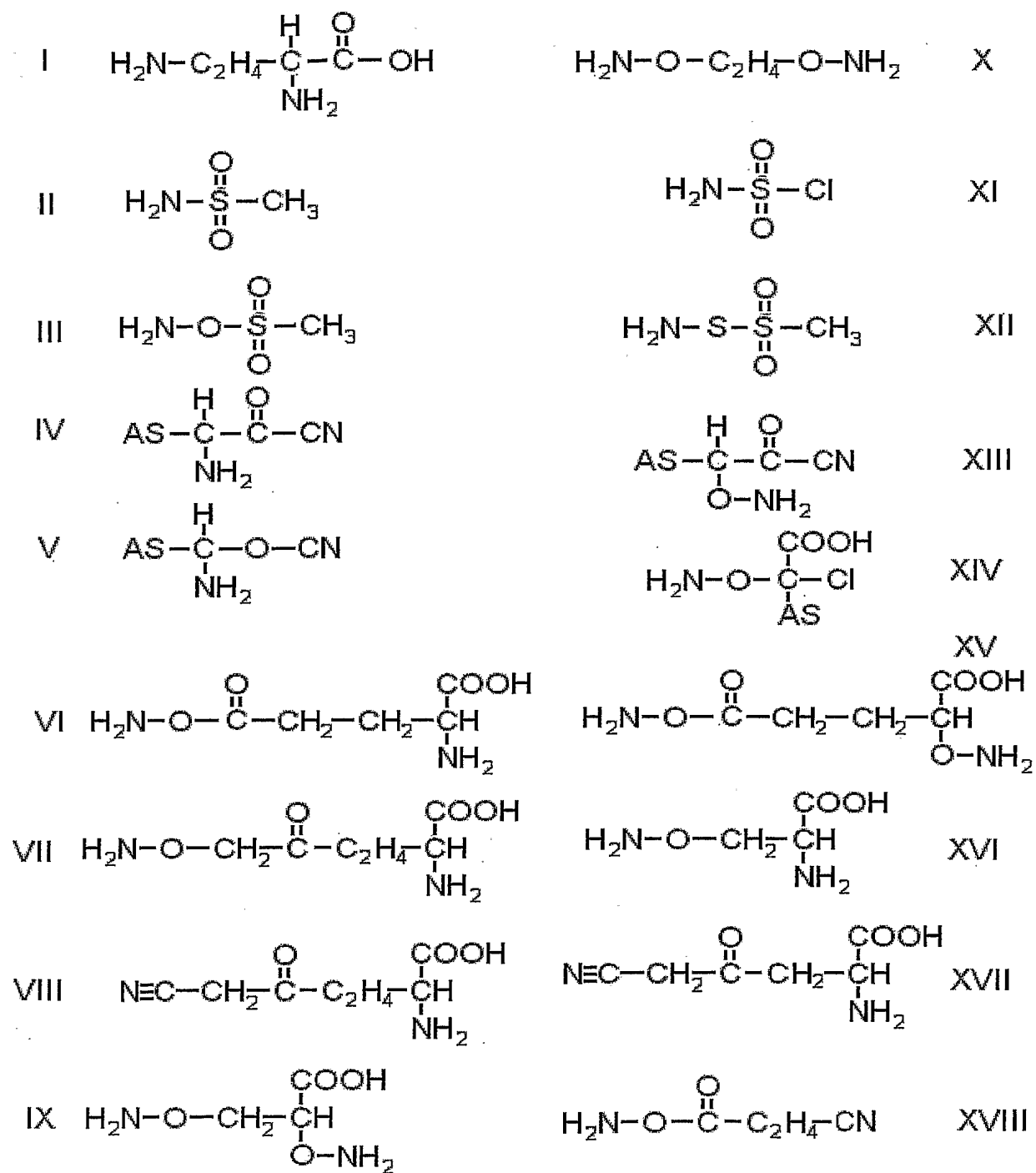


Fig. 3

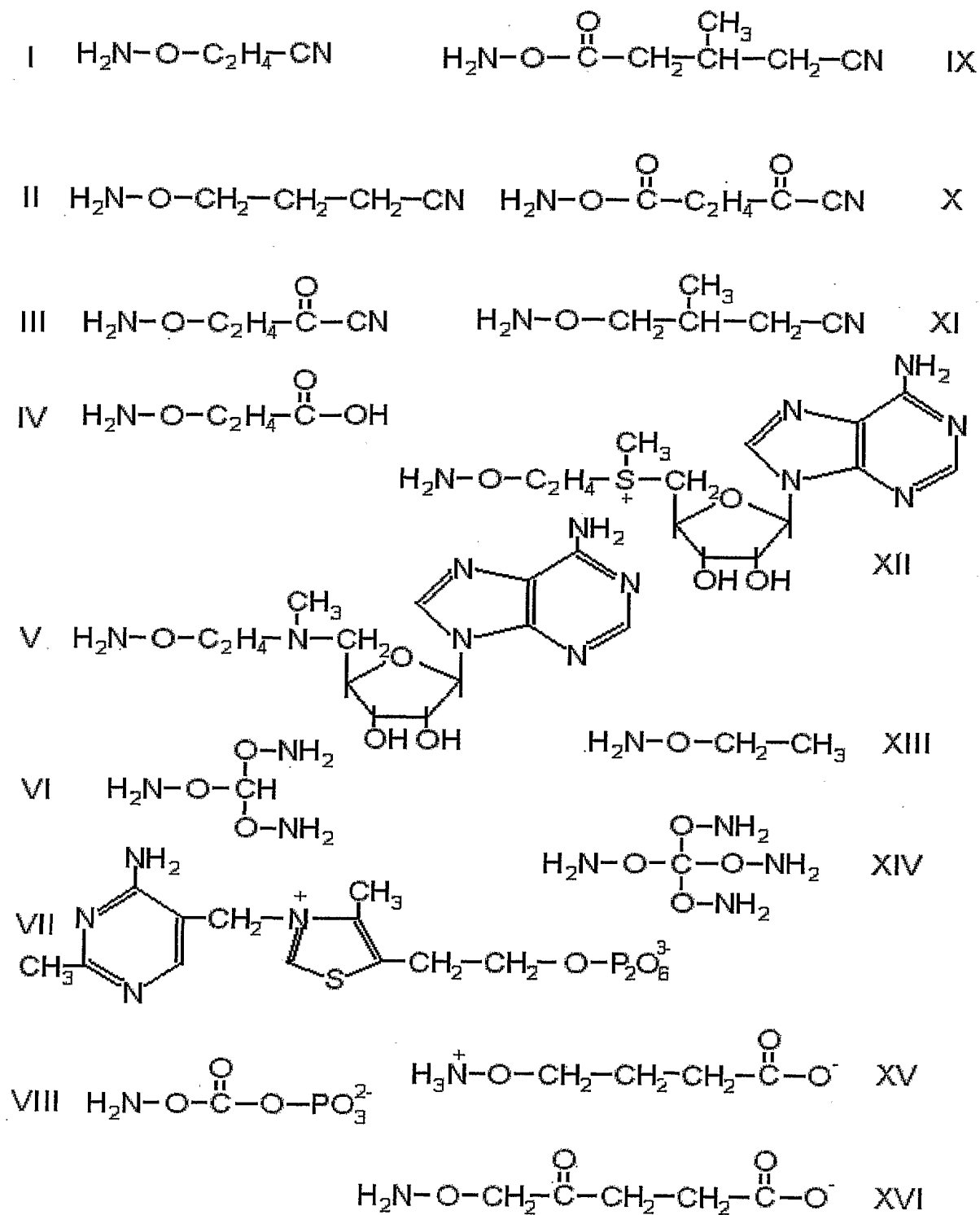


Fig. 4

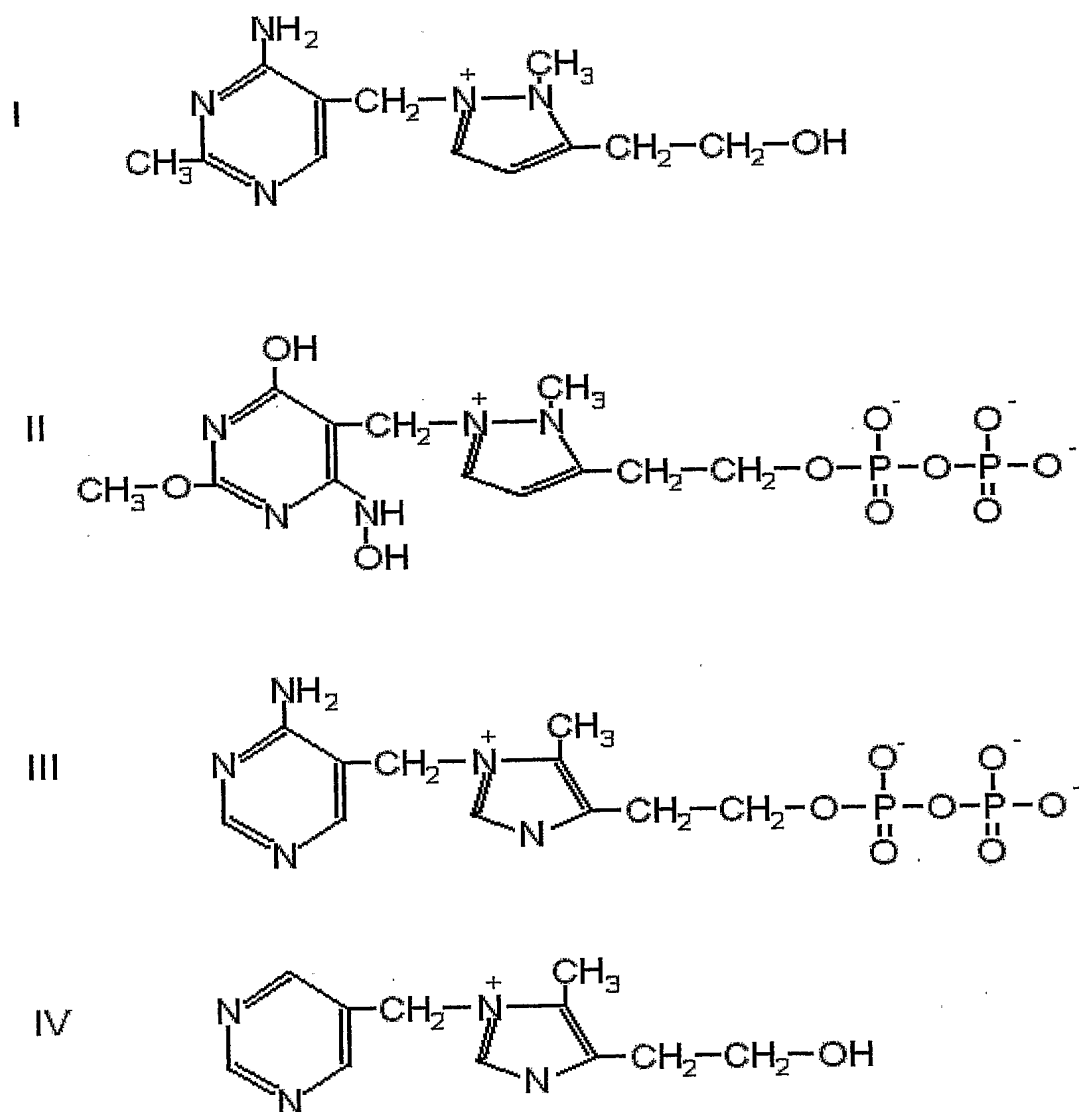


Fig. 5